

Morfoanatomia foliar de *Irlbachia nemorosa* (Willd. ex Roem. & Schult.) Merr. (Gentianaceae: Helieae)

Marcos Melo Corrêa¹, Gabriel Augusto Martins de Melo¹, Amauri Herbert Krahl², Maria Gracimar Pacheco de Araújo³

1. Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica, Universidade Federal do Amazonas, Av. Gen. Rodrigo Octávio 3000, Japiim, Manaus, AM, Brasil. 36080000. E-mail: marcos.melo.correa@outlook.com; gammelo@yahoo.com.br

2. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av. André Araújo 2936, Aleixo, Manaus, AM, Brasil. 69060001. E-mail: amaurikrahl@hotmail.com

3. Professora Adjunta de Botânica, Universidade Federal do Amazonas, Av. Gen. Rodrigo Octávio 3000, Japiim, Manaus, AM, Brasil. 36080000. E-mail: mgaraujo@ufam.edu.br

RESUMO: *Irlbachia* é um gênero nativo do Brasil, com quatro espécies ocorrendo no território nacional, sendo *Irlbachia nemorosa* a única espécie endêmica. Aspectos sobre anatomia foliar no gênero são ainda inexplorados. O presente estudo descreve aspectos da estrutura morfoanatômica foliar de *Irlbachia nemorosa*. O pecíolo e a nervura central apresentam feixes vasculares bicolaterais, com ocorrência de poucas esclereides no córtex. O mesófilo é dorsiventral, com parênquima paliçádico e lacunoso com pouco espaço entre as células. Os estômatos são anomocíticos ocorrendo na linha epidérmica. A espécie possui características que permitem sucesso na colonização de ambientes abertos, pois embora seja uma herbácea, apresentando caracteres xeromórficos conferindo resistência à planta.

Palavras-chave: anatomia foliar, morfologia foliar, endemismo, Amazônia.

Leaf morphoanatomy of *Irlbachia nemorosa* (Willd. ex Roem. & Schult.) Merr. (Gentianaceae: Helieae)

ABSTRACT: *Irlbachia* is a genus native from Brazil, with four species occurring on the country, with *Irlbachia nemorosa* being the only endemic species. Aspects on leaf anatomy of the genus are still unknown. The present study describes aspects of morphological and anatomical structure of the leaf of individuals of *Irlbachia nemorosa*. The petiole and the midrib vascular bundles are bicolateral, with the occurrence of sclereids in the cortex. The mesophyll is dorsiventral, with compact palisade and spongy parenchyma. Stomata are anomocytic occurring in the epidermal line. The species has characters that allow its successful colonization of open habitats, although it is a herb it shows xeromorphic aspects conferring resistance to the plant.

Keywords: leaf anatomy, leaf morphology, endemism, Amazon.

1. Introdução

Gentianaceae Juss. é subcosmopolita e seus representantes apresentam hábito herbáceo, subarborescente, arbustivo e raramente arbóreo. Apresenta 87 gêneros e mais de 1600 espécies distribuídas em seis tribos. Possuem folhas opostas, inflorescências cimosas, às vezes terminais e solitárias, ou axilares; flores com corolas tubulares e lobos contortos (STRUWE, 2002; STRUWE et al., 2002). As espécies da família são geralmente referidas por suas propriedades medicinais. Entretanto, atualmente nenhuma tem sido explorada economicamente, seja por meio do extrativismo ou do cultivo (CORDEIRO; ROCH, 2005).

Nos neotrópicos são registrados 44 gêneros sendo 35 endêmicos, *Gentiana* é o mais numeroso, com 360 espécies. Além disso, diversos gêneros como *Honkinia* e *Lagenanthus* são monoespecíficos (CALIÓ, 2011). No Brasil ocorrem 115 espécies em 31 gêneros, sendo que seis gêneros e 50 espécies são dados como endêmicos. Os gêneros *Voyria* e *Schultesia* são os mais diversos, representados por 12 e 18 espécies, respectivamente. Em *Irlbachia*, gênero nativo, quatro espécies ocorrem no território nacional, com *I. nemorosa* sendo a única endêmica (GUIMARÃES; CALIÓ; SAAVEDRA, 2012).

Aspectos da anatomia de plantas pertencentes a esta família são pouco explorados, e no Brasil se destacam os estudos de Alvarenga et al. (2009) com a anatomia foliar

de *Calolisianthus speciosus* e Delgado et al. (2009), que estudaram a anatomia comparada de *Deianira* e *Schultesia*. Jansen e Smets (1998) estudaram a madeira dos gêneros *Lisianthus*, *Macrocarpaea*, *Symbolanthus* e *Tachadenus*. Os gêneros *Anthocleista* e *Fagraea*, inclusos na família na época, também foram analisados pelos autores. Aspectos da anatomia foliar do gênero *Irlbachia* são ainda inexplorados.

Irlbachia apresenta cerca de 20 espécies, as quais são ervas anuais encontradas em savanas e pastagens ou em áreas abertas e muitas vezes em áreas de areia branca. Estão distribuídas na América do Sul tropical, principalmente na região norte do Rio Amazonas (Brasil), Venezuela, Colômbia e Guiana (MAAS; MAAS, 2005; CALIÓ, 2009; CALIÓ, 2011). Várias espécies do gênero são referidas como tônicas, antifebris e antireumáticas (CORDEIRO; ROCH, 2005). *Irlbachia nemorosa* (Willd. ex Roem. & Schult.) Merr. é uma erva encontrada em agrupamentos em campina ou ocorrendo em clareiras. A espécie apresenta folhas opostas, cruzadas, encontradas no caule tipo haste, cilíndrico, esverdeado que se ramifica de onde saem as inflorescências terminais em dicásio.

Com o objetivo de ampliar o conhecimento referente às características morfológicas e anatômicas da família, este estudo descreve a morfoanatomia foliar de *Irlbachia nemorosa*.

2. Material e Métodos

Folhas de indivíduos de *Irlbachia nemorosa* foram coletadas em julho de 2011 e julho de 2012 em uma área de campina próxima à cidade de Manaus. Indivíduos com material fértil foram coletados e incorporados ao acervo do herbário do Instituto Nacional de Pesquisas na Amazônia (INPA) (INPA 243982 e INPA 243983).

Morfologia foliar

Verificou-se para a morfologia o contorno e coloração do pecíolo, o tipo de contorno, venação, coloração, consistência e tipo de superfície do limbo. A terminologia utilizada está de acordo com Hickey e King (2000). Foram utilizadas 61 folhas para a caracterização morfométrica com uso de paquímetro digital, cujas mensurações incluem o comprimento e largura do limbo, além do comprimento e diâmetro do pecíolo. A partir dos valores obtidos, foi calculada a média e o desvio padrão.

Vista frontal da epiderme

Na caracterização do tecido epidérmico em vista frontal, observou-se o contorno e forma das células, tipo de estômatos e presença de tricomas. Utilizou-se o método de dissociação conforme Franklin (1945, modificado em Kraus e Arduin 1997), com o uso de peróxido de hidrogênio 30% + ácido acético P.A. (1:1), coloração com safranina 1% em etanol 50% e montagem em lâminas temporárias.

Anatomia do pecíolo e limbo

Cortes transversais foram efetuados na região mediana do pecíolo e do limbo, utilizando micrótomo manual. Estes foram submetidos a clareamento em hipoclorito de sódio, coloração com azul de astra e safranina (safrablau 9:1) e montagem em gelatina glicerizada (KRAUS; ARDUIN, 1997). Foram analisados o padrão de distribuição dos tecidos de revestimento, sustentação e preenchimento e arranjo do sistema vascular do pecíolo e da nervura central. Para a confirmação de grãos de amido visualizados em microscópio aplicou-se a solução de lugol.

Fotomicrografias com máquina digital Canon PC1252 acoplada a um fotomicroscópio Zeiss Primo Star Microlmaging 37081 foram tiradas para o registro das observações realizadas sobre o material.

3. Resultado e Discussão

Morfologia foliar

Irlbachia nemorosa possui pecíolo com contorno reto na face adaxial com duas projeções laterais e convexo na face abaxial (Fig. 1A), esverdeado a verde amarelado. Folhas subsésseis, decussadas, ovadas a lanceoladas, base cuneada a arredondada, ápice agudo, glabras, verde amarelado na face adaxial e verde creme na abaxial, consistência herbácea, venação acródroma. Os dados correspondem ao disponível na literatura para o gênero (MAAS, 1985; STRUWE, 2002; STRUWE et al., 2002). Folhas opostas cruzadas foram descritas para o gênero *Deianira* (DELGADO et al., 2009), filotaxia comum em Gentianaceae (MAAS; MAAS, 2005), o que também ocorre em *I. nemorosa*. Comprimento do pecíolo: 0,96- (5,69±2,32)-10,40 mm; diâmetro do pecíolo: 0,49- (0,87±0,19)-1,32mm; comprimento do limbo: 21,60-

(45,59±13,38)-81,45 mm; largura do limbo: 5,16- (12,26±4,35)-81,45 mm. As medidas do limbo diferem do encontrado para *Irlbachia alata* (Maas & Maas 2005), atualmente posicionada em *Chelonanthus*, mas não se distanciam muito do descrito para *Irlbachia oblongifolia* (PSCHEIDT; AFONSO, 2008). Os dados contrastam com o descrito para *Irlbachia elegans*, descrita originalmente por possuir folhas lanceoladas, pecioladas, de ápice acuminado (MARTIUS, 1895).

Anatomia do pecíolo

O pecíolo apresenta feixes vasculares em disposição bicolateral, sendo um feixe central com feixes acessórios de tamanho menor dispostos simetricamente próximo à região adaxial (Fig. 1A). Alvarenga et al. (2009) observou em *Calolisianthus speciosa* feixes vasculares colaterais, com o tecido floemático organizado em pequenos agrupamentos. Células esclerenquimáticas ocorrem dispersas na região do feixe vascular central (Fig. 1B). Delgado et al. (2009) observaram esclereídes associadas aos feixes vasculares de *Deianira eribescens*.

Conforme Esau (1976), um fator que influencia fortemente o desenvolvimento de variações estruturais na folha é a luz. Folhas mais expostas à radiação solar apresentam características relativas à xeromorfia, o que possivelmente explica a presença de esclereídes próximas aos feixes vasculares no pecíolo, embora estas não constituam uma estrutura definida. Estas células podem ocorrer também como forma de compensação à ausência de calotas de fibras, garantindo sustentação mecânica ao pecíolo. Ocorre colênquima do tipo angular abaixo da epiderme, que apresenta cutícula pouco espessa acompanhando o contorno das células epidérmicas papilosas (Fig. 1A). Tüzün, Toker e Toker (2011) descrevem cutícula mais espessa para a face adaxial e menos espessa na face abaxial para *Gentiana oliveri*.

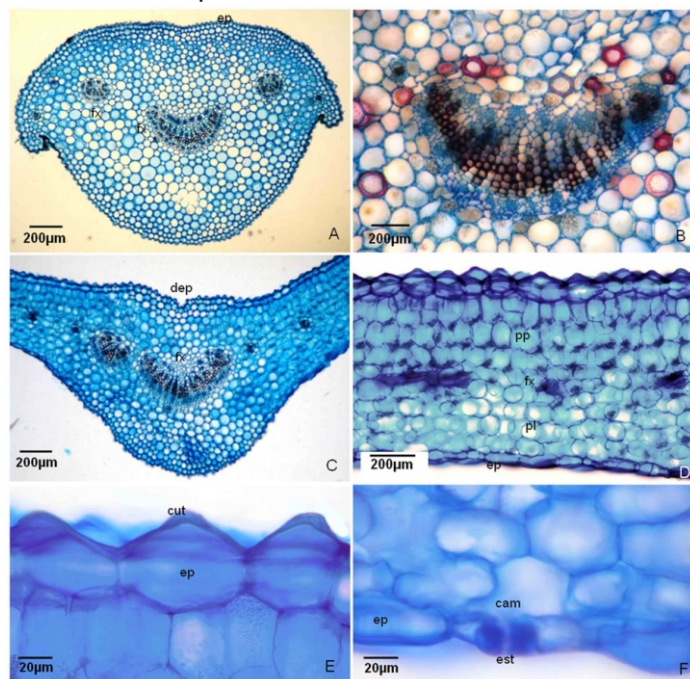


Figura 1. Cortes transversais de *Irlbachia nemorosa*. A. Pecíolo; B. Feixe vascular central; C. Região mediana do limbo e nervura central; D. Limbo; E. Face adaxial do limbo; F. Face abaxial do limbo. cam: câmara subestomática; col: colênquima; cut: cutícula; dep: depressão; ep: epiderme; esc: esclereídes; est: estômato; fl: floema; fx: feixe vascular; pp: parênquima paliçádico; pl: parênquima lacunar; xi: xilema.

Nervura central e limbo em vista transversal

O arranjo dos tecidos de preenchimento, sustentação e revestimento da nervura central é similar ao do pecíolo, com feixes acessórios menos destacados e com simetria menos evidente, sem a ocorrência de esclereides no local (Fig. 1C). O mesofilo é do tipo dorsiventral, com parênquima paliçádico formado por células compactas e pouco diferenciadas do parênquima lacunoso, formado predominantemente por três camadas de células alongadas, com grãos de amido localizados próximos às paredes anticlinais (Fig. 1D). O amido concentra-se principalmente nas regiões dos feixes vasculares na nervura central e em toda a extensão do parênquima clorofiliano (Fig. 2A, B). Delgado et al. (2009) não encontraram mesofilo dorsiventral para espécies de *Deianira*, registrando a ocorrência de mesofilo homogêneo para todas as espécies do gênero. Tüzün, Toker e Toker (2011) também encontraram mesofilo com células de formato similar, embora ocorra diferenciação entre parênquima paliçádico e lacunoso. Em espécies de *Calolisianthus* ocorre mesofilo dos tipos homogêneo e dorsiventral (DELGADO et al., 2011). Feixes vasculares ocorrem no mesofilo sem a presença de extensões de bainha ou calotas de fibras.

Irlbachia nemorosa ocorre em abundância em áreas desflorestadas na área de estudo e em menor número em ambientes sombreados no mesmo local. Esau (1976) afirma que numerosas herbáceas possuem mesofilo relativamente indiferenciado, o que ocorre na espécie em estudo. Características como folhas finas, cutícula delgada quando se manifestam com intensidade são característicos de folhas hidromórficas, mas também são encontrados em diferentes graus em plantas herbáceas que crescem sob moderada quantidade de umidade disponível. A relação superfície-área é uma característica de plantas xeromórficas presente em *I. nemorosa* uma vez que os tecidos do mesofilo são compactados, espaços intercelulares no mesofilo ausentes e não ocorrem extensões de bainha associadas à venação. Dickinson (2001) afirma que a redução de tamanho dos tecidos e especializações destes está também associada a uma troca mais eficiente de gases e vapor d'água.

Epiderme

A epiderme do pecíolo, do mesofilo e da nervura central apresenta cristas conferindo aspecto papiloso, sendo unisseriada com células poliédricas em ambas as faces do pecíolo (Fig. 1A), nervura central e na face adaxial do mesofilo (Fig. 1C, D, E) e uma camada de células poliédricas a retangulares na face abaxial do mesofilo (Fig. 1F). Uma depressão é observável na porção mediana da face adaxial da nervura central (Fig. 1C). Na nervura central e no mesofilo a cutícula também é fina, formando cristas na região apical das células epidérmicas. Delgado et al. (2009) descreve cutícula fina e lisa para *Deianira erubescens*, *D. pallescens* e *D. chiquitana*, enquanto em *D. nervosa* são observadas ornamentações cuticulares. Alvarenga et al. (2009) observaram em *C. speciosa* cutícula constantemente espessa. Essa espécie ocorre no cerrado, ambiente mais seco que o florestal, o que exige adaptações para evitar a perda de água, uma vez que o ambiente do cerrado

fornece condições de alta desidratação, devido à intensa radiação e baixa cobertura florestal. Todas as Helieae são mesofíticas de acordo com Carlquist e Grant (2005), mas com variados graus de adaptação. *Irlbachia nemorosa* é uma herbácea com alguns aspectos escleromórficos.

A epiderme em vista frontal varia no formato das paredes celulares anticlinais, observáveis em vista frontal. A face adaxial da epiderme apresenta paredes anticlinais retas e sem evidências de pilosidade, conferindo glabrescência às folhas (Fig. 2C). A face abaxial possui linhas anticlinais acentuadamente sinuosas, o que dificultou a distinção das células subsidiárias dos estômatos das demais células epidérmicas (Fig. 2D). Em *C. speciosa*, as células da face adaxial têm contornos levemente sinuosos sem evidência de apêndices, enquanto a face abaxial possui contornos sinuosos com células subsidiárias mais destacadas em relação às células epidérmicas (Alvarenga et al. 2009). Nas folhas das espécies de *Deianira*, a parede periclinal externa das células da epiderme é lisa, sendo fina nas folhas das rosetas de *D. erubescens* e *D. pallescens* e espessa nas folhas opostas cruzadas de *D. erubescens*, *D. pallescens*, *D. nervosa* e *D. chiquitana* (Delgado et al. 2009).

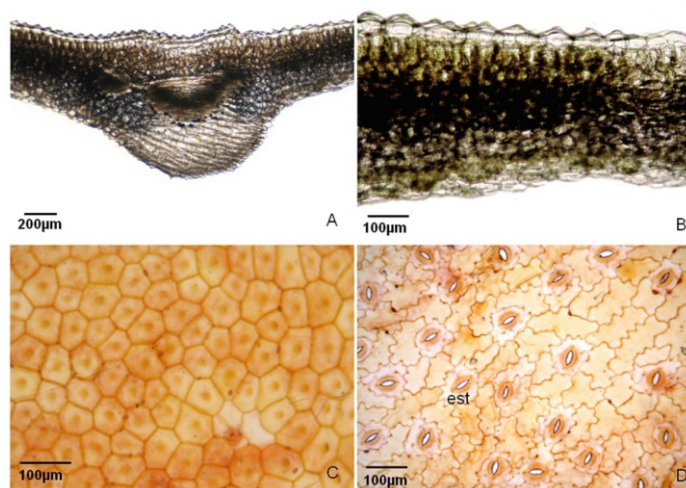


Figura 2. *Irlbachia nemorosa*. A. Teste com lugol na nervura central; B. Teste com lugol em corte transversal do limbo; C. vista frontal da epiderme adaxial do limbo; D. vista frontal da epiderme abaxial do limbo. est: estômato.

A presença de estômatos é restrita à face abaxial da epiderme, sendo sua visualização possível em vista frontal (Fig. 2D), aberturas estomáticas e câmaras subestomáticas são visíveis em corte transversal (Fig. 1F). As mesófitas, em geral, apresentam estômatos apenas na superfície abaxial (APEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2003). Em *I. nemorosa* os complexos estomáticos são anomocíticos (Fig. 2D), dispostos no mesmo nível da linha da epiderme. Metcalfe e Chalk (1979) relataram para a família estômatos dos tipos anomocítico e anisocítico. Tüzün, Toker e Toker. (2011) descreveram folhas anfiestomáticas, com estômatos anomocíticos, com a ocorrência de estômatos anisocíticos em menor número, sempre localizados ao mesmo nível da linha epidérmica. Delgado et al. (2009) descreveu folhas hipoestomáticas

com mesofilo homogêneo para espécies do gênero *Deianira*, ocorrência de folhas anfiestomáticas e hipoestomáticas, com estômatos no mesmo nível das demais células epidérmicas em todas as espécies e o tipo preponderante de estômatos é o anisocítico. Em *C. speciosus* os estômatos também estão restritos à face abaxial da epiderme, ocorrendo predominantemente complexos estomáticos do tipo anisocítico, com variações com duas ou quatro células subsidiárias, como característica de plantas ocorrentes em ambientes mesofíticos (ALVARENGA et al., 2009).

A consistência herbácea e delicada das folhas de *I. nemorosa* pode ser explicada pela ausência de extensões de bainha de feixe no mesofilo e de células esclerenquimáticas ao redor dos feixes vasculares formando estruturas rígidas, embora a espécie apresente caracteres escleromórficos. Em *C. speciosus*, espécie que também apresenta características escleromórficas, as células do colênquima angular circundam externamente todo o feixe vascular, floema e xilemas primários, individualizando-o do córtex (ALVARENGA et al. 2009). Em *D. nervosa*, fibras formam calotas circundando os feixes, conferindo rigidez às folhas (DELGADO et al., 2009).

4. Conclusão

Com base nos dados apresentados aqui afirma-se que *I. nemorosa* sendo uma herbácea, possui características que permitem sucesso na colonização de ambientes abertos como campinas e campinaranas, reforçado pelo fato de que a espécie apresenta caracteres xeromórficos que lhe conferem resistência.

5. Agradecimentos

À Dr^o. Lena Struwe pela identificação da espécie estudada, à estrutura oferecida pelo LABAF para a realização deste estudo, ao auxílio do técnico Manoel Roberto Pereira Viana com os cortes transversais, à Dr^o. Veridiana Vizoni Scudeller pela ajuda com a revisão do manuscrito e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM pela concessão de bolsa de mestrado.

6. Referências Bibliográficas

- ALVARENGA, T. M.; FONSECA E SILVA, F.; CAMPOS, W. C.; JÚNIOR, F. J. S. Anatomia foliar de *Calolisianthus speciosus* Gilg (Gentianaceae). **Pesquisas, Botânica**, v.60, p. 315-321, 2009.
- APEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**. Ed. UFV - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2003.
- CALIÓ, M. F. **Sistemática de Helieae (Gentianaceae)**. 2009. Tese (doutorado) Universidade de São Paulo/USP, São Paulo, 2009.
- CALIÓ, M. F. Neotropical Gentianaceae. Disponível em <<http://www.keew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Gentianaceae.htm>> (Acessada em: 22 jul. 2012). 2011.
- CARLQUIST, S.; GRANT, J. R. Wood anatomy of Gentianaceae, tribe Helieae, in relation to ecology, habit, systematics, and sample diameter. **Brittonia**, v. 57, n. 3, p. 276-291, 2005.
- CORDEIRO, I.; HOCH, A. M. Gentianaceae. In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J.; MELHEM, T. S.; GIULIETTI, A. M. (Eds.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. v.4. São Paulo, FAPESP, RiMa, 2005.
- DELGADO, M. N.; AZEVEDO, A. A.; VALENTE G. E.; KASUYA, M. C. Morfo-anatomia comparada de espécies da subtribo Coutoubeinae (Chironieae - Gentianaceae). **Acta Botanica Brasilica** v. 23, n. 4, p. 956-967, 2009.
- DELGADO, M. N.; AZEVEDO, A. A.; SILVA, L. C.; VALENTE, G. E.; KASUYA, M. C. M. Comparative anatomy of *Calolisianthus* species (Gentianaceae – Helieae) from Brazil: taxonomic aspects. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 68, n. 1, p. 139–155, 2011.
- DICKINSON, W.C. **Integrative Plant Anatomy**. Academic press. 2001.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo, Edgard Blücher, 1976.
- FRANKLIN, G. L. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. **Nature**, v. 155, n. 1, p. 51, 1945.
- GUIMARÃES, E. F.; CALIÓ, M. F.; SAAVEDRA, M. M. 2012. Gentianaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000117>> (Acesso em: 20 jan. 2012). 2012.
- HICKEY, M.; KING, C. **The Cambridge Illustrated Glossary of Botanical Terms**. Cambridge, Cambridge University Press, 2000.
- JANSEN, S.; SMETS, E. Vestured pits in some woody Gentianaceae. **IAWA Journal**, v. 19, n. 1, p. 35-42, 1998.
- KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica, Edur, 1997.
- MAAS, P.J.M. 1985. Nomenclatural notes on neotropical Lysiantheae (Gentianaceae). **Proceedings, Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen. Series C, biological and medical sciences**. v. 88, p. 405–412.
- MAAS, H.; MAAS, P. J. M. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Gentianaceae. **Rodriguésia**, v. 6, p. 169-173, 2005.
- MARTIUS, C.F.P. von. **Flora Brasiliensis**. v. 6. Part 1. Lipsiae: Frid. Fleischer in Comm. Missouri Botanical Garden, 1895.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of Dicotyledons**, 2. ed., Oxford, Oxford University Press, v. 1, 1979.
- PSCHIEDT, A. C.; AFONSO, P. Levantamento da família Gentianaceae Juss. no núcleo Curucutu, Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo. **Revista do Instituto Florestal** v. 20, n. 2, p. 147-153, 2008.
- STRUWE, L. Gentianales (Coffees, Dogbanes, Gentians and Milkweeds). **Encyclopedia of Life Sciences**. Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group, 2002.
- STRUWE, L.; KADEREIT, J. W.; KLACKENBERG, J.; NILSSON, S.; THIV, M.; VON HAGEN, K. B.; ALBERT, V. A. Systematics, character evolution, and biogeography of Gentianaceae, including a new tribal and subtribal classification in Gentianaceae. In: STRUWE, L.; ALBERT, V.A. (Eds.) **Gentianaceae – systematics and natural history**. Cambridge University Press, Cambridge, 2002.
- TÜZÜN, C. Y.; TOKER, M. C.; TOKER, G. Anatomical investigations on root, stem, and leaf of *Gentiana olivieri* Griseb. **Pharmacognosy Magazine**, v. 7, n. 25, p. 9-13, 2011.